

THESIS

WÜRZBURG

1967

Aus der Dermatologischen Klinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. Röckl

Zum Einfluß von Heparin auf die allergische
Spätreaktion vom Ekzemtyp

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR ROAD
PALO ALTO, CALIFORNIA

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Christa Eckert
aus Neustadt/Schw.

Würzburg 1967

Aus der Dermatologischen Klinik der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. Röckl

**Zum Einfluß von Heparin auf die allergische
Spätreaktion vom Ekzemttyp**

Inaugural - Dissertation

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von
Christa Eckert
aus Neustadt/Schw.

Würzburg 1967

Referent : Privatdozent Dr. Schröpl

Korreferent : Professor Dr. H. Röckl

Tag der Promotion : **13. 12. 67**

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung	1
B. Literaturübersicht	3
I. Chemie des Heparins	3
1. Aufbau des Heparinmoleküls	3
2. Physikalische Eigenschaften	3
a. Stabilität und Löslichkeit	3
b. Dissoziation und osmotische Wirksamkeit	4
c. Metachromasie	4
3. Chemische Eigenschaften	4
a. Optische Aktivität	4
b. Affinität zu Eiweißkörpern	5
c. Fällung und Neutralisierung	5
d. Hydrolyse	6
4. Heparinnachweis	6
a. Chemisch	6
aa. Fällung	6
bb. Uroheparin	7
b. Histochemisch	7
aa. Metachromasie	7
bb. Alcianblau	7
cc. Gerinnungsverzögerung	7
5. Standardisierung	7
II. Physiologie des Heparins	8
1. Vorkommen	8
2. Biosynthese	9
3. Bedeutung und Mechanismus der Heparinfreisetzung	9
4. Abbau und Ausscheidung	11
III. Pharmakologie	12
1. Heparinpräparate	12
a. Wirkung auf die Blutgerinnung	12
b. Toxizität	13
c. Nebenwirkungen	14

2. Heparinoide	15
3. Therapeutische Anwendung	15
IV. Einfluß des Heparins auf allergische Reaktionen	17
1. Definition	17
2. Allgemeine allergische Erkrankungen	17
a. Glomerulonephritis	18
b. Anaphylaxie	18
c. Asthma	19
d. Rhinitis, Konjunktivitis	20
3. Allergische dermatologische Erkrankungen	20
a. Hyperergische Purpura	21
b. Sanarelli-Shwartzman Phänomen	21
c. Ekzem	22
C. Eigene Untersuchungen	23
I. Material	23
1. Versuchstiere	23
2. Dinitrochlorbenzol	23
3. Heparin	23
II. Methodik	24
1. Allgemeine Versuchsanordnung	24
2. Versuch I	25
3. Versuch II	25
III. Ergebnisse	26
1. Versuch I	26
a. Prozentuale Aufteilung	26
b. Statistische Auswertung	28
2. Versuch II	29
a. Prozentuale Aufteilung	29
b. Statistische Auswertung	30
D. Diskussion	31
E. Zusammenfassung	33
F. Literaturverzeichnis	I-XII

A. EINLEITUNG

Die relativ häufigste Erkrankung in der Dermatologie ist das Ekzem. Daher wurde schon früh die Frage nach seiner Ätiologie und Pathogenese, sowie nach seiner eventuellen günstigen Beeinflussung gestellt. Erste Versuche einer experimentellen, ekzematösen Sensibilisierung am Menschen wurden bereits im Jahre 1911 von CASH (9) und BLOCH (7) unternommen. Bald gewannen dann tierexperimentelle Untersuchungen, besonders am Meerschweinchen, für die Ekzemforschung zunehmend an Bedeutung (LANDSTEINER und JAKOBS (72)). Zur Sensibilisierung wurden die verschiedensten Stoffe verwandt, so z. B. Metallverbindungen, einfache organische Stoffe der aliphatischen, heterocyclischen und aromatischen Reihe, mikrobielle Allergene usw.

Das Hauptproblem war zunächst, den Sensibilisierungsmechanismus aufzudecken. Dabei waren Fragen wie Konzentration, Schwellenwert und Eindringungsweg des Allergens von Interesse; ferner die Möglichkeit einer eventuellen passiven Übertragung, wobei besonders die Bedeutung von Lymphbahnen und Lymphdrüsen diskutiert wurde; Probleme der Sensibilisierungsfähigkeit und ihre Abhängigkeit von der chemischen Konstitution des Allergens; weiter die Frage nach Kreuzreaktionen, Gruppenspezifität des Allergens und einer möglichen Bildung von Komplexallergenen; schließlich wurde auch das Problem der Unterdrückung und Förderung einer Ekzemreaktion experimentell angegangen. Im Hinblick auf die Ekzemtherapie interessierte in erster Linie, ob es durch spezifische Maßnahmen möglich sei, die Sensibilisierung zu unterdrücken, oder wenigstens zu vermindern. So wurden Desensibilisierungen mit Antihistaminica, Corticosteroiden und anderen Hormonen, sowie Eingriffen am Nervensystem versucht.

Verschiedene Autoren vermuteten, auch durch Heparin einen günstigen Einfluß auf das Ekzem ausüben zu können. Auf Grund von Tiereperi-

menten konnten KYES und STRAUSER (71) zeigen, daß der anaphylaktische Schock bei solchen Tieren, welche zuvor mit hohen Dosen Heparin behandelt worden waren, nicht in Erscheinung trat. Diese Beobachtung bestätigten WILLIAMS, van de CARR (123) und MACHT (76) durch Experimente an sensibilisierten Meerschweinchen. Andere Autoren wiederum waren von der Richtigkeit dieser Aussage nicht überzeugt (WAND (120); HANZLIK (42); REED und LAMSON (100); REED (99); MAFFEL und Mitarb. (78)). Daher griffen GENTILE und HOLMGREN (33) dieses Problem von neuem auf und versuchten durch weitere Tierexperimente einen Beitrag zur Klärung dieser Frage zu leisten. Obwohl die Ergebnisse ihrer Versuche kein eindeutiges Resultat erbrachten, glaubten sie dennoch an einer gewissen antiallergischen Wirksamkeit des Heparins festhalten zu können.

Da diese Feststellung von grundsätzlicher Bedeutung ist, soll in der vorliegenden Arbeit ihre Richtigkeit überprüft werden. Dabei soll festgestellt werden, ob die ekzematöse Sensibilisierung einerseits, andererseits die Auslösung der ekzematösen Kontaktreaktionen beim sensibilisierten Meerschweinchen beeinflußt werden.

B. LITERATURÜBERSICHT

I. CHEMIE DES HEPARINS

1. Aufbau des Heparinmoleküls

Heparin ist ein lineares Mucopolysaccharid. Seine wesentlichen Bausteine sind Glucuronsäure, Glucosamin und Sulfat. Im Gegensatz zu den anderen Mucopolysacchariden liegen α -glykosidische Bindungen vor. Mit seinem Schwefelgehalt bis zu 45 % ist es die am stärksten ionisierbare Verbindung des Organismus (FISCHER 23). Ein Sulfatrest ist sulfonamidisch am Glucosamin gebunden. Die Stellung der anderen Sulfatreste kann variieren. Sie scheinen jedoch über Sauerstoffbrücken an Hydroxylgruppen (O-Sulfonsäuren) des Glucosamins und der Glucuronsäure gekoppelt zu sein (GERSH 34; WOLFROM, MONTGOMERY, KARABINOS, RATHGEB 125). Die Acetylgruppe der Glucuronsäure ist nicht verestert (GASTPAR 30). Das Molekulargewicht für gereinigtes Heparin schwankt zwischen 17000 und 20000 (WALTON 119). WOLFROM und Mitarbeiter (125) schlugen auf Grund von Abbauprodukten eines gereinigten Heparinnatriumsalzes eine Konstitutionsformel vor, welche der Bruttoformel $(C_{24}H_{31}O_{35}N_2S_5Na_7)_x$ entspricht. Nach JENSEN und Mitarbeiter (53) ist x etwa gleich 13 zu setzen. Dies würde bedeuten, daß das polymere Heparinmolekül aus etwa 52 Monosaccharideinheiten aufgebaut ist (WALTON 119).

2. Physikalische Eigenschaften

a. Stabilität und Löslichkeit

Das gegenüber anderen Mucopolysacchariden relativ niedermolekulare Heparin ist bei p_H 7 kochbeständig und gegen schwaches Alkali bei 60°C stabil. Stärkeres Alkali und Säurespuren inaktivieren es jedoch. Dabei erfolgt eine Denaturierung zunächst ohne merkliche Sulfatabspaltung

oder Depolymerisation (GIBIAN 35). Gegen die meisten Enzyme, sowie gegen die meisten chemischen Agentien verhält sich Heparin resistent (JORPES 56). Wie andere Polysaccharide bildet Heparin in wässrigen Lösungen mit Metallsalzen keine Niederschläge (JORPES, BERGSTRÖM 57). In H_2O ist es leicht und optisch klar löslich.

b. Dissoziation und osmotische Wirksamkeit

Der hohe Schwefelgehalt verleiht dem Heparin eine sehr starke elektrische Ladung (FISCHER 23). Die freie Säure ist in 2 %iger Lösung vollständig dissoziiert. Trotz der starken Dissoziation seiner reaktiven Gruppen haben wässrige Heparinlösungen einen extrem niederen osmotischen Druck. Es besteht somit keine osmotische Wirksamkeit auf Erythrozyten (JORPES 56).

c. Metachromasie

Mit verschiedenen basischen Farbstoffen wie Toluidinblau (JAQUES, MITFORD, RICKER 51), Azur-A, Trypanblau (STÜTTGEN 112), Alcianblau usw., bildet Heparin bei niedriger Ionenstärke und geeignetem p_H Komplexe. Dabei kommt es zur Verkürzung der Wellenlänge des vom Farbstoff absorbierten Lichtes. Es treten spektrale Bandenverschiebungen bzw. neue Banden auf, wodurch ein Farbumschlag resultiert, der als Metachromasie bezeichnet wird. Das Heparin wird dabei inaktiviert. Mit Hilfe von radioaktivem Schwefel konnte nachgewiesen werden, daß die zunehmende Metachromasie bei der Reifung von Mastzellengranula auf einer steigenden Sulfurierung des Heparins beruht (WERLE, AMANN 121). Eiweißlösungen können die metachromatische Aktivität des Heparins aufheben (SEITZ 105).

3. Chemische Eigenschaften

a. Optische Aktivität

Wie oben schon erwähnt, wurde neuerdings als Verknüpfungsart die 1-4-1-4-Bindung ermittelt. Daher ist Heparin rechtsdrehend. Hochge-

reinigtes Heparinnatriumsalz aus Rinderlunge zeigt eine optische Aktivität von 65° (GASTPAR 30). Kommerzielles Heparin mit seinem niedrigeren Schwefelgehalt und seiner geringeren Aktivität besitzt dagegen eine Dextrorotation um $+50^{\circ}$.

b. Affinität zu Eiweißkörpern

Heparin besitzt zu bestimmten Bluteiweißkörpern eine starke Affinität. In saurem Milieu bildet ein Mol Heparin mit zwei Mol Rinderalbumin einen stabilen Komplex (CLARKE, MONKHOUSE 11; SCHMITZ und FISCHER 104). Mc DONAGH (82) stellte fest, daß Heparin durch Hydratation Eiweißmoleküle zu stabilisieren vermag. Eine ausgesprochene Affinität besteht zu den Globulinen (BLASIUS, SEITZ 6). Dabei ist die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit der α - und β -Globuline erhöht, während Albumin unbeeinflusst bleibt. Diese Tatsache erklärt sich wohl weniger durch eine Beeinflussung der Globuline, als vielmehr durch Einwirkung des Heparins auf die mit den Globulinen wandernden Lipoproteine, welche eine erhöhte elektrophoretische Beweglichkeit zeigen (KAUFMANN 63).

c. Fällung und Neutralisierung

Durch basische Protamine (Protaminsulfat, Clupeinsulfat) und Histone (MACKOWIAK, BARNARD 77; JAKUES 48), sowie durch Eiweißkörper (JAKUES 49), Polyamine (TERAYAMA 115) bzw. langkettige, quartäre Ammoniumsalze (FERRANTE 22) wird das Heparin je nach Ionenstärke und p_H gefällt und in seiner Wirkung neutralisiert. Von den Protaminen, Histonen und Polypeptiden weiß man, daß sie in die lebenden Zellen eindringen und zu Elektrolytverschiebungen führen (FISCHER, KREUZER, ARGENTON 24). Die Speicherung der niedermolekularen Eiweißkörper in der Zelle kann das 10 bis 50-fache der Außenkonzentration betragen. Auch durch Histamin und andere biogene Amine (WERLE, AMANN 121), sowie durch Antihistaminica in niederer

Dosierung kann Heparin gebunden werden, eine Eigenschaft, die man ausnützt, um seine Wirkung in vivo aufzuheben (MØLLER 84).

d. Hydrolyse

Mit steigendem Schwefelgehalt des Heparins nimmt seine Resistenz gegenüber saurer Hydrolyse zu (JORPES 56). Die Sulfatgruppen erschweren die saure Spaltung der Mucopolysaccharidketten. Am empfindlichsten gegenüber relativ milder, saurer Hydrolyse sind seine Sulfamatgruppen (FOSTER, MARTLEW, STACY 27; FOSTER, HUGGARD 26). Sie können anscheinend noch ohne wesentliche Depolymerisation abgespalten werden (JORPES, BOSTRÖM, MANSSON 58). Die Estersulfamatgruppen werden etwas langsamer hydrolysiert (MEYER, SCHWARTZ 83). Dagegen sind die Sulfamatgruppen weitgehend alkalistabil im Gegensatz zu den hier empfindlicheren Estersulfatgruppen (JORPES, BOSTRÖM, MANSSON 58). Eine vollständige Sulfatabspaltung dürfte nicht ohne weitgehende Kettenverkleinerung möglich sein (DAVIDSON, MEYER 14).

4. Heparinnachweis

a. Chemisch

aa. Fällung:

Beim Anfärben des Heparins mit Toluidinblau entsteht neben der Metachromasie eine Fällung oder Ausflockung eines Heparin-Toluidinblaukomplexes. Diese Reaktion gelingt sowohl in wässriger wie auch in uriniger, heparinhaltiger Lösung. Daher läßt sich dieses Verfahren auch zum Nachweis von Uroheparin heranziehen. Ist reichlich Heparin vorhanden, so entsteht nach einigen Minuten eine sehr deutliche, bei nur geringem Vorkommen nach Stunden eine angedeutete Flockung, die in auffallendem Licht violett, in durchfallendem Licht bei mikroskopischer Betrachtung immer rot erscheint. Mit Hilfe dieser Methode kann

der sichere Nachweis einer Minimalmenge von etwa 2,5 μ /ml Heparin in uriniger Lösung erbracht werden (PIPER, WIEDEMANN 97).

bb. Uroheparin:

Eine wichtige Nachweismethode ist die Bestimmung des ausgeschiedenen Uroheparins, dessen Auftreten einen bedeutend feineren Hinweis darstellt als die Gerinnungszeit.

b. Histochemisch

aa. Metachromasie:

Die schon oben erwähnte Metachromasie hat sich als sehr spezifische und daher gute Nachweismethode herausgestellt.

bb. Alcianblau:

Der basische Farbstoff Alcianblau wird für die Darstellung negativ geladener Substrate benutzt wie dies die sulfatierten Mucopolysaccharide sind, insbesondere das Heparin (STÜTTGEN 112).

cc. Gerinnungsverzögerung:

Als Test für das Vorhandensein von Heparin im Körper steht die Bestimmung der Gerinnungszeit zur Verfügung, für deren Beeinflussung ein Schwellenwert von 0,25 mg/kg (Hund, Katze, Meerschweinchen und Mensch) angegeben wird (PIPER, WIEDEMANN 97).

5. Standardisierung

1942 wurde vom National Institute for Medical Research in London als vorläufige Heparineinheit (IE) die Aktivität definiert, die 1/130 mg des Standardheparins besitzt. Als Basis wurde ein wasserfreies Heparinnatriumsalz gewählt, das aus einem kristallinen Heparinbariumsalz gewonnen wurde (JORGES 56).

II. PHYSIOLOGIE DES HEPARINS

1. Vorkommen

Schon EHRLICH glaubte, daß die basophilen Granula der Mastzellen als Sekretions- oder Stoffwechselgranula zu deuten seien. JORPES, HOLMGREN und WILANDER(59) kamen auf Grund der metachromatischen Anfärbbarkeit der Mastzellen eines Gewebes zur Auffassung, daß ihre Granula Heparin enthalten. Eine Reihe weiterer Beobachtungen, wie das Vorhandensein großer Heparinmengen in Mastzelltumoren (CRASS, MARSHALL, RILEY 12), der Nachweis intensiver, gerinnungshemmender Aktivität in isolierten Mastzellgranula der Maus (KÖKSAL 69), sowie die Fähigkeit der Mastzellen, parenteral zugeführtes Heparin zu speichern (FRICK 28; SCHÜRER 103) trugen zur Festigung dieser These bei. Einen weiteren Beweis lieferten EHRLICH und Mitarbeiter (19), indem sie zeigen konnten, daß beim chronischen Ödem neben den Mastzellen und der Hyaluronsäure auch der Heparin-gehalt des Bindegewebes stark erhöht ist. Unsere heutige Vorstellung geht dahin, daß die Mastzellen auch als Heparinozyten bezeichnet werden können (EHRLICH 18). Auch die Granula der Blutmastzellen (basophile Granulozyten) enthalten Heparin (SYLVÉN 114), jedoch besteht ein rasse- und ernährungsbedingter Unterschied in ihrem Heparin-gehalt (BRAUNSTEINER, POUTUZHEK, THUMB 8). Ebenso ist die biologische Wirksamkeit je nach Herkunft unterschiedlich. Dies könnte zum Teil auf verschiedenem Polymerisationsgrad und einer Differenz im Sulfatgehalt beruhen (GIBIAN 35). Die Blutmastzellen weisen einen erheblich höheren Prozentsatz sauer reagierender Granula auf als die Gewebsmastzellen (LENNERT, SCHUBERT 73). Die zirkulierenden Basophilen sind daher normalerweise ausgereift und enthalten Heparintrischwefelsäureester (TURCHINI 116).

2. Biosynthese

Aus der Strukturformel des Heparins ergibt sich, daß Glucuronsäure und Hexosamin (Glucosamin) die Vorläufer der monomeren Grundbausteine sein könnten. Die Acetylierung bzw. die Sulfatierung könnte dabei vor oder nach der Disaccharidbildung eintreten. Weiter zurückliegende Vorstufen könnten Glucose und Galaktose oder auch Glucose allein sein. Wegen der vermuteten Geradzahligkeit der Polysaccharide ist es wahrscheinlich, daß sie durch Polymerisation der Disaccharide und nicht durch wechselweisen Anbau des einen oder anderen Monosaccharids entstehen (GIBIAN 35). Als Syntheseort werden die Fibroblasten angesehen (STÜTTGEN 112). Die Bindung des sauren Heparins an das basische, leicht diffusible Histamin in den Mastzellengranula dürfte nach neueren Befunden in Form eines ternären Komplexes über eine Metallbrücke (Zink) erfolgen (AMANN und WOLFF 3; KERP und STEINHÄUSER 66). Das Bestehen derartiger Zusammenhänge wird durch die Beobachtung unterstützt, daß bei Föten die Histamineinlagerung in die Mastzellen der Bindung und Reifung saurer Mucopolysaccharide ungefähr parallel geht (PARRAT und WEST 91; SCHAUER und EDER 102).

3. Bedeutung und Mechanismus der Heparinfreisetzung

Die bisherigen Befunde lassen die Mastzellen als besonders spezialisierte Zellen erscheinen. So ist z. B. die Reaktivität der Haut (Erythem, Quaddelbildung) von der qualitativen und quantitativen Durchsetzung mit Mastzellen abhängig (STÜTTGEN 112). Von EDER und SCHAUER (17) konnte gezeigt werden, daß bei der akuten Entzündung, sowie bei der Anaphylaxie (KELLER 64) und ähnlichen Vorgängen die Mastzellen starken morphologischen Veränderungen unterliegen. Ebenso finden sich bei der Urticaria pigmentosa bzw. der sog. Mastzellenreticulose histologisch im oberen Corium und im Papillarkörper mehr

oder weniger umschriebene Infiltrate aus polyedrischen Mastzellen, deren Granula bei entsprechender Färbung eine charakteristische Metachromasie aufweisen. Nach mechanischer Reizung tritt eine Degranulation der Mastzellen ein (ASBOE-HANSEN 4). Dasselbe Verhalten der Mastzellen in der Haut läßt sich bei einer Antigen-Antikörperreaktion nachweisen (STÜTTGEN 112). Schon drei Stunden nach Allergenkontakt zeigen die Mastzellgranula eine stärkere Metachromasie, die Zellen selbst werden größer, unregelmäßiger geformt und stehen mit ihren schlauchförmigen Fortsätzen in deutlicher Beziehung zu den erweiterten Gefäßen. Die Anzahl der Zellen nimmt gegenüber dem Ausgangswert meist deutlich zu, wobei allerdings eine scheinbare Zunahme durch Demaskierung diskutiert wird. Weiterhin kommt es zu intraplasmatischer Vakuolenbildung und zum Austritt der metachromatischen Granula in das Zwischengewebe, bis die Zellen völlig entleert erscheinen. Sie sind dann nur mehr schattenhaft nachweisbar. Gleichzeitig kommt es zu charakteristischen Veränderungen der Grundsubstanz um diese Zellen. Es bilden sich entweder verschieden große, diffus metachromatisch angefärbte Zonen oder nicht angefärbte Höfe, die wie Riesenvakuolen aussehen.

Diese mehr oder weniger einheitliche Reaktion ist der sichtbare Ausdruck eines sekretorischen Vorgangs (WIEDMANN und NIEBAUER 122), der unmittelbar auf Gefäße und Bindegewebe wirkt (NIEBAUER 89). Der physiologische Aspekt der Entgranulierung der Gewebsmastzellen wird allgemein darin gesehen, daß das saure Mucopolysaccharid Heparin die basischen Noxen zu binden und zu entgiften vermag (NIEBAUER 90). Darauf beruht auch die erhöhte Toleranz heparinbehandelter Tiere gegenüber verschiedenen Giften und mikrobiellen Metaboliten (AHUYA und Mitarb. 16; KLOBUSITZKY 68).

4. Abbau und Ausscheidung

Heparin ist eine sehr stoffwechselaktive Substanz. Teilweise wird es im Körper (Leber, Niere) abgebaut, teilweise durch die Niere ausgeschieden. Die Ausscheidung erfolgt tubulär (PIPER 95). Der Heparinabbau erfolgt wahrscheinlich durch das aus Leber und Niere isolierte Ferment Heparinase (CHO und JAUQUES 10). Nach Untersuchungen von GIBIAN(35) ist es auch durchaus möglich, daß von einem als Flavobakterium identifizierten Bodenbakterium adaptativ ein Ferment gebildet wird, das eine echte Mucosaccharidase ist und daher den Namen Heparinase verdient. Dieses Bakterium ist in der Lage nach Adaptation Heparin als einzige C-, N-, und S-Quelle zu benutzen. Die Heparinase bewirkt einen irreversiblen, enzymatischen Abbau des Heparinmoleküls bei einem p_H -Optimum von 5,4, wobei eine Abnahme der gerinnungsphysiologischen Aktivität bei unveränderter Metachromasie resultiert. Dies spricht dafür, daß Heparinase an der für die gerinnungsverzögernde Wirkung wichtigen Sulfamatgruppe des Heparinmoleküls angreift. Neuere Untersuchungen weisen jedoch auch auf eine Heparinbindung durch Leberproteine hin, die durch p_H -Änderung reversibel ist. Solche unspezifischen Komplexverbindungen sind durch den Verlust der gerinnungsverzögernden und metachromatischen Aktivität gekennzeichnet (JAUQUES und JAUQUES 50).

Der Plasmaheparinspiegel ist normalerweise so gering, daß ohne Heparininjektionen eine physiologische Ausscheidung im Harn nicht stattfindet. Maximale Heparinausscheidungen wurden bei Urticaria pigmentosa, bei nässendem Ekzem und hyperlipidämischer Xanthomatose beobachtet (PIPER 96).

Bei hohen Heparineinzeldosen werden bereits in den ersten 3 Stunden nach der Injektion etwa 30 Gewichtsprozent der injizierten Menge im Urin ausgeschieden, wobei die ausgeschiedene Substanz einen dosisabhängigen hohen Prozentsatz an unabgebautem, voll aktivem Heparin

enthält. Im Laufe von 48 Stunden steigt die Menge des ausgeschiedenen Uroheparins - ein partiell inaktiviertes Heparin - auf etwa 50 Gewichtsprozent an (NEJEDLY, PIPER 88). Die Antithrombinaktivität im Urin bleibt jedoch fast unverändert, da im weiteren Verlauf im wesentlichen nur Bruchstücke des Heparinmoleküls ausgeschieden werden (GASTPAR 30). Es ist anzunehmen, daß beim Menschen die Gerinnungsverlängerung im Blut und parallel hierzu der Antithrombintiter des Uroheparins auch bei unphysiologisch hohen Einzeldosen einen dosisabhängigen, nahezu proportionalen Anstieg aufweist. Die Dauer einer therapeutisch suffizienten Gerinnungsverzögerung steht jedoch in keinem Verhältnis zur Steigerung der Dosis (KAISER und ZÖLLNER 62). Daraus läßt sich folgern, daß die Stoffwechselkapazität des Körpers für Heparin begrenzt ist (GASTPAR und GOOSSENS 32).

III. PHARMAKOLOGIE

1. Heparinpräparate

a. Wirkung auf die Blutgerinnung

Heparin ist ein sogenannter polyvalenter Gerinnungshemmer, d.h. es beeinflusst mehrere Phasen der Blutgerinnung. Der komplexe Mechanismus dieser Wirkung ist jedoch noch nicht völlig geklärt (GASTPAR 30).

aa. Wirkung auf die Vorphase und die erste Phase der Blutgerinnung: Durch Heparin wird die Umwandlung von Prothrombin in Thrombin, gemessen an der Thromboplastinzeit, verzögert bzw. verhindert (HOWELL und HOLT 46). Die Umwandlungsgeschwindigkeit von Prothrombin in Thrombin, sowie der Prothrombinverbrauch sind Funktionen der Thromboplastin- und Faktor V-Aktivität. Daher ist die festgestellte

Antiprothrombinwirkung des Heparins (DYCKERHOFF und GRÜNE-WALD 16) wahrscheinlich nur die Resultante seiner Hemmwirkung auf die Thromboplastinbildung und den Faktor V, Prothrombin selbst, wie auch der Faktor VII- Komplex werden durch Heparin nicht beeinflusst (SOULIER 107). Aktive Thrombokinase wird dagegen sicher durch Heparin inaktiviert (GORTER 39).

bb. Zweite Phase

In Gegenwart von Heparin wird die elektrophoretische Wanderung des Thrombins verändert. Diese Tatsache läßt auf eine Heparin-Thrombin Komplexbildung schließen, die zu einer Verminderung der Thrombinaktivität führt. Weitere Untersuchungen ergaben (GODAL 36), daß Heparin und Fibrin(ogen) während der Gerinnung unter stöchiometrischen Bedingungen miteinander reagieren, wobei 10 Mol Fibrinogen 1 Mol Heparin zu binden vermögen. Höhere Heparinkonzentrationen hemmen die Fibrinpolymerisation, was sich in einer Veränderung der Gerinnselqualität und Gerinnungsfähigkeit äußert (GODAL 36). KLEIN und SEEGER (67) stellten fest, daß die Fähigkeit des Fibrinogens, Thrombin zu adsorbieren, durch Heparin verstärkt wird. Heparin hat also Co-Faktor-Eigenschaften.

cc. Nachgerinnung

Die Retraktion des Gerinnsels wird durch Heparin gehemmt (FONIO 25), da es eine stabilisierende Wirkung auf die Thrombozyten ausübt. Ferner wurde ein gewisser Einfluß auf die Fibrinolyse festgestellt (HALSE 41). Dabei handelt es sich jedoch um einen Alles- oder Nichts-Effekt, d.h. wenn die Reaktionsschwelle des Heparins erreicht ist, wird der fibrinolytische Prozeß in Gang gesetzt (GASTPAR 30).

b. Toxizität

Reine, proteinfreie Heparinpräparate werden von Mensch und Tier gut vertragen. Ihre geringe Toxizität dürfte nicht zuletzt mit dem relativ

niederen Molekulargewicht des Heparins zusammenhängen, welches eine Akkumulation nicht begünstigt (GIBIAN 35). 1000 mg/kg führten im akuten Toxizitätsversuch beim Kaninchen zu keinen pathologischen Reaktionen (JÜRGENS 61). Eine indirekt toxische Wirkung ist allerdings durch die gerinnungsverzögernde Wirkung des Heparins gegeben, wobei schon geringfügige Wunden zum Tode führen können.

c. Nebenwirkungen

Als relativ häufigste Nebenwirkung bei Heparintherapie wird ein temporärer Haarausfall beobachtet, dessen Ursache unbekannt ist. Bei Vermeidung von Gefäßtraumen kommt es unter Heparin nicht zu Spontanblutungen, selbst wenn das Blut für längere Zeit ungerinnbar ist (JÜRGENS 61). Erst nach höheren Heparindosen ist die Blutungszeit merklich verlängert (JORES und DETZEL 55). Kapillarmikroskopische Untersuchungen zeigten, daß Heparin zu einer Steigerung der Gefäßpermeabilität führt, die etwa der Reduktion der Gerinnungsfaktoren proportional ist (WITTE 124). Bei chronischer Heparinbehandlung ließ sich eine signifikante Steigerung der Natrium-, Kalium- und Urinausscheidung sowohl bei Patienten mit kardialen Ödem wie auch bei gesunden Versuchspersonen nachweisen. VALLENT und FACHELT (118) stellten weiter fest, daß die Ausscheidung von neutralen 17-Ketosteroiden unter Heparin zurückgeht. Allergische Reaktionen sowie Temperaturerhöhungen nach Heparinmedikation dürften früher weitgehend durch Verunreinigung der angewandten Präparate bedingt gewesen sein (MATHIEU, REMY, PERNOT, METZ und LAGARDE 80).

2. Heparinoide

Unter Heparinoiden versteht man synthetische Präparate mit heparin-ähnlicher, pharmakologischer Wirkung (MARX und VATH 79; HALSE 40). Diese können mehr oder weniger hochpolymere Polysaccharide, Polyuronide und Mucopolysaccharide pflanzlicher bzw. tierischer Her-

kunft sein. Durch Eingriffe am Molekül (Sulfurierung, Polymerisierung, Depolymerisierung) werden sie zu Heparinoiden verändert. Obwohl alle diese Substanzen wie das Heparin polyvalente Gerinnungshemmer sind, sind sie jedoch meist gerinnungsphysiologisch weniger wirksam als Heparin. Die Problematik einer Therapie mit Heparinoiden liegt daher in ihrer geringen therapeutischen Breite, welche eine hohe Dosierung erfordert, die aber infolge der mehr oder weniger großen Toxizität der Heparinoide für längere Zeit nicht möglich ist (GASTPAR 31; STAMM 110; GOSENS, GASTPAR, SEITZ 38). Histopathologisch ließ sich bei mit Elheparin^(R) und Thrombocid^(R) behandelten Tieren insbesondere eine Kapillarschädigung nachweisen (HARDEGG, HARTERT und HIERONYMI 43). Bei Patienten, welche mit kleinen Dosen von Elheparin^(R) (15000 IE i.v.) behandelt wurden, traten stärkere subjektive und objektive Erscheinungen wie Angstgefühl, Unruhe, Pulsbeschleunigung und Ödeme auf. Liquemin^(R) in gleicher bis 5-fach höherer Dosis wurde dagegen reaktionslos vertragen. Auf Grund dieser Befunde und bei der bekannten Forderung nach genügend wirksamen, gleichzeitig aber wenig toxischen Anticoagulantien erscheint eine allgemeine klinische Anwendung von Heparinoiden gegenüber den Nativheparinen mit gewissen Nachteilen verbunden zu sein.

3. Therapeutische Anwendung

Uneingeschränkt findet Heparin bisher nur beim frischen Myokardinfarkt Verwendung, wobei neben der dilatatorischen Wirkung des Heparins auf die Blutgefäße, insbesondere auf die Koronarien, vor allem die Verhütung thromboembolischer Ereignisse zur Geltung kommt. Dabei besitzt Heparin neben einem peripheren, antagonistischen Effekt gegenüber Adrenalin, noch einen zweiten Angriffspunkt am neurogenen Vasomotorenzentrum über eine Inaktivierung des vasokonstriktorischen

Serotonins (UHRY und KAUFMANN 117; PERLICK 92; KELLER 65).

So wurde auch die schlagartig einsetzende, subjektive Besserung bei schweren Lungenembolien unter dem Einfluß von Heparin auf diese seine spasmolytische Wirksamkeit zurückgeführt (NAEGELI und MATIS 87), wie auch sein günstiger Effekt auf postkommotionelle Kopfschmerzen (MATIS 81).

Von Interesse ist, daß Heparin die Wundheilung beeinflusst und das Wachstum bzw. die Zellteilung in Gewebekulturen von Tumorzellen und von Bakterien hemmt. Hier dürften Einflüsse auf die beteiligten Fermentsysteme zu vermuten sein. In ähnlicher Richtung vermutet GIBIAN (35) den Angriffspunkt des Heparins bei der Unterbindung allergischer Reaktionen sensibilisierter Tiere (s. nächster Abschnitt). Es wurde weiter beobachtet, daß bei chronischer Heparinzufuhr in Dosen, welche die Blutgerinnung noch nicht merklich beeinflussen, der erhöhte Blutdruck langsam, gleichsam physiologisch bis zum Erfordernishochdruck gesenkt wird (GASTPAR 30). Im Gegensatz zu anderen Hypotensiva senkt Heparin den Blutdruck niemals unter die erforderliche Norm (GASTPAR 30). Diese Beobachtungen ließen vermuten, daß sich der Wirkungsmechanismus des Heparins auf den Blutdruck von dem anderer Hypotensiva in einigen Punkten unterscheidet. Es besteht die Möglichkeit, daß seine blutdrucksenkende Wirkung in Zusammenhang steht mit einer Hemmung der gesteigerten Erregbarkeit des Kreislaufsystems gegenüber pressorisch wirkenden Stoffen (HARDEGG, HÜHNSTOCK, MAASS und ABEL 44).

Bei chronischen Otitiden berichtet PLAGET (98) gute Erfolge nach einer Kombinationstherapie von Antibiotica und Heparin. Ebenso soll eine Cortison-Heparintherapie bei Thrombophlebitiden und Dermatitis herpetiformis (ALEXANDER 2) wirksamer als die alleinige Anwendung von Corticosteroiden sein (ZAMBOURAS, ANEZYRIS und KALAKONAS (126).

IV. EINFLUSS DES HEPARINS AUF ALLERGISCHE REAKTIONEN

1. Definition

Das Nomenklatur-Komitee der internationalen Allergiegesellschaft definierte 1958 die Allergie als eine erworbene, qualitativ veränderte Fähigkeit des lebenden Gewebes zu reagieren, hervorgerufen durch ein spezifisches Allergen. Unter einem Allergen wird dabei jegliche Substanz verstanden, die fähig ist, den Zustand einer Allergie oder deren Manifestation hervorzurufen (STORCK 111). Eine allergische Reaktion wird aber erst dann ausgelöst, wenn das Allergen mit seinem spezifischen Antikörper im Zellverband reagiert (STÜTTGEN 113). Solche Antikörper sind Reaktionsprodukte der Körperzellen auf den Reiz der Antigene, gegen welche sie spezifisch gerichtet sind. Sie können im zirkulierenden Blut (zirkulierende Antikörper) oder an Zellen gebunden (sessile Antikörper) vorliegen (STÜTTGEN 113). Die allergische Reaktion ihrerseits teilt man wieder in zwei Gruppen ein:

1. Die Sofortreaktion (anaphylaktischer Schock, Arthusreaktion, flüchtige Urticaria).
2. Die verzögerte Reaktion (Allergie vom Tuberkulin-, vom Ekzemyt, Transplantationsallergie (INDERBITZIN 47)).

2. Allgemeine allergische Erkrankungen

Die Verlängerung der Blutgerinnungszeit bei allergischen Prozessen war schon frühzeitig erkannt worden. Jedoch erst durch tierexperimentelle Untersuchungen und klinische Beobachtungen wurde bekannt, daß diese Verzögerung der Blutgerinnung auf einer Freisetzung von Heparin bzw. einer Erhöhung des Antithrombintiters beruhen dürfte (STÜTTGEN 113). Außer der anticoagulativen Wirkung spielt das Heparin bei allergischen Vorgängen aber auch als stark negativ geladenes,

saures Mucopolysaccharid eine Rolle, die in der Heparinatbildung mit basischen Substanzen (Histamin-Heparinat) Bedeutung gewinnt (STÜTTGEN 113).

a. Glomerulonephritis

Nachdem bekannt war, daß experimentell hervorgerufene allergische Nierenschädigungen große Ähnlichkeit mit der klinischen diffusen Glomerulonephritis aufweisen, wurden Tierexperimente unternommen, um die Möglichkeit einer Beeinflussbarkeit allergischer Nierenaffecti-
onen durch Heparin zu prüfen. Dabei stellte sich heraus, daß die pathologischen Harnbefunde bei Kaninchen, welchen Pferdeserum i.v. injiziert war, unter Heparin ausblieben. Diese Wirkung des Heparins erklärte sich der Autor als eine Teilerscheinung seiner allgemein anaphylaktischen Wirksamkeit. Bei einer anderen Tierspezies jedoch konnte ein derartiger Effekt nach Nephrotoxininjektion nicht erzielt werden. Hinsichtlich einer therapeutischen Beeinflussung der klinischen Nephritis durch Heparin können daher auf Grund dieser Versuche noch keine definitiven Schlüsse gezogen werden SILFVER-SKJÖLD 106).

b. Anaphylaxie

Heparin ist für das Ungerinnbarwerden des Blutes verantwortlich, das im anaphylaktischen Schock des Hundes auftritt und zuerst von BIEDL und KRAUS (5) beobachtet wurde. KYES und STRAUSSER (71) sowie WILLIAMS und CARR (123) beschrieben erstmals eine Hemmung des anaphylaktischen Schocks durch Gabe von Heparin. Dieser Befund wurde später bestätigt (JÜRGENS 60). MOTA und VUGMAN (86) konnten sogar eine Mastzellruptur während des anaphylaktischen Schocks bei Ratten nachweisen und die dadurch verursachte physiologische Freisetzung von Heparin neben Serotonin und Histamin. Daraus darf geschlossen werden, daß diese Heparinausschüttung eine Schutzfunktion

des Organismus darstellt. Dabei kommt es zu einer Verarmung der Leber an Heparin (WERLE und AMANN 121), sowie zu einer Entgranulierung der Lebermastzellen. Wenn die Leber vor Auslösung des Schocks ausgeschaltet wurde, stieg der Heparinegehalt des Blutes nicht an (JAQUES und WATERS 52). Nach FROMMEYER (29) kommt es im Schock neben der Heparinämie zu einer Steigerung der fibrinolytischen Aktivität, bisweilen sogar zu einer temporären Afibrinogenämie. Beim Meerschweinchen allerdings wurde keine und beim Kaninchen nur eine geringe Verlängerung der Gerinnungszeit beobachtet. Dennoch läßt sich auch bei diesen Tieren nach Auslösen des anaphylaktischen Schocks im Blut ein metachromatischer Stoff nachweisen, der sich wie Heparin extrahieren läßt, das Blut aber nicht ungerinnbar macht (MONKHOUSE, FIDLAR und BARLOW (85). Dieser Befund besagt nach FELDBERG (21), daß der metachromatische Stoff in den Mastzellen verschiedener Tiere nicht immer Heparin ist. Es kann sich um einen ähnlichen Stoff handeln, der gleichzeitig mit Histamin freigesetzt wird, jedoch keine anti-coagulative Wirkung besitzt. Wenn auch in vivo nur relativ hohe Heparinkonzentrationen die anaphylaktischen Erscheinungen zu hemmen vermögen, so widerspricht dies nicht der oben angenommenen Schutzfunktion des Heparins, da am Ort der zellständigen Antigen-Antikörperreaktion die lokale Konzentration an endogenem Heparin beträchtliche Werte erreichen kann (GASTPAR 30).

c. Asthma

Wird Asthmatikern vor einer starken Provokation mit spezifischen Allergenen Heparin i. v. verabreicht, so ist es möglich, die allergische Reaktion zu hemmen. Die Aktionsweise als solche konnte bisher jedoch nicht befriedigend erklärt werden. Es wird das Eingreifen des Heparins in ein Enzymsystem diskutiert (DAHL 13).

d. Rhinitis, Konjunktivitis

Bei der akuten Pollenallergie mit allergischer Rhinitis und Konjunktivitis ließen sich durch Heparinmedikation zusätzlich zur Steroidtherapie die akuten Erscheinungen, teilweise sogar schlagartig bessern. Dieser günstige Effekt des Heparins wird auf seine Wirkung gegenüber Histamin und basischer Entzündungsprodukte zurückgeführt (GASTPAR 30).

3. Allergische dermatologische Erkrankungen

Das histologische Bild des Kontaktekzems ist charakterisiert durch perivaskuläre, lymphozytäre Infiltrate in der oberen Cutis wie in der Spongiosa und primär suprabasale Bläschenbildung in der Epidermis. Eine allergiespezifische Gewebsveränderung im eigentlichen Sinne gibt es jedoch nicht (SPIER 108). Die Ekzemreaktion ist vielmehr als eine Gesamtleistung des Gewebes aufzufassen. Ihr liegt eine Reaktion sämtlicher Hautgewebsbestandteile zugrunde. Das gefäßführende Bindegewebe samt Nerven, sowie die Epidermis sind daran beteiligt (MACHER 75).

Der Typ der allergischen Reaktion wird nicht nur durch die Lokalisation der Antigen-Antikörperreaktion in der jeweiligen Hautschicht unterschieden, sondern auch durch das Spektrum der freigesetzten Wirkstoffe. Diese können aus hauteigenen Strukturen und hautfremden Zellen und Flüssigkeiten stammen. Als solche Wirkstoffe einer allergischen Reaktion werden Histamin, Heparin, Acetylcholin, Polypeptide und schließlich Permeabilitätsfaktoren angegeben. Bei Ablauf einer Antigen-Antikörper-Reaktion werden diese Substanzen in den Zellverbänden an den Zelloberflächen aus ihrer inaktiven Bindung gelöst und auch gebildet (STÜTTGEN 112).

Es wurde nun versucht, durch Anticoagulantien auch cutane allergische Reaktionen zu verhindern bzw. zumindest abzuschwächen. Während

RUPP u. Mitarb. (101) und KOZLOWSKY (70) dies auf Grund experimenteller Untersuchungen nicht prinzipiell bestätigen konnten, bejahen andere Autoren die positive Beeinflussung allergisch cutaner Reaktionen durch Heparin (LOGAN 74; EICHBAUM 20; GOOD, THOMAS 37; DOLOWITZ 15; GENTELE und HOLMGREN 33).

a. Hyperergische Purpura

Entzündliche, hämorrhagisch-nekrotische Reaktionen bei hyperergischer Purpura werden durch Heparininjektionen verstärkt. Zu dieser Feststellung kamen KOZLOWSKY und Mitarb. (70) durch Versuche mit Meerschweinchen, denen i. c. Serum von Patienten mit deutlichen Symptomen einer hyperergischen Purpura injiziert wurde. Entzündliche und entzündlich-hämorrhagische Reaktionen konnten nach i. c. Gabe von Heparin bei an hyperergischer Purpura Erkrankten häufiger nachgewiesen werden, als bei Patienten mit chronischer Purpura und anderen Hauterkrankungen. Es wird vermutet, daß diese Reaktion auf Heparin kein allergisches Phänomen darstellt, sondern durch die Stimulierung der kapillartoxischen Eigenschaften des Serums ausgelöst wird.

b. SANARELLI-SHWARTZMAN -Phänomen

Durch Heparin wird sowohl das lokale als auch das generalisierte SANARELLI-SHWARTZMAN Phänomen unterbunden (EICHBAUM 20; GOOD und THOMAS 37). Wahrscheinlich ist für die Hemmung dieser Gefäß- und Gewebsreaktionen die antikomplementäre Wirkung des Heparins ausschlaggebend, da der Grad der Zytolyse und Histiolyse der Komplementkonzentration parallel läuft (PERLICK 93). Das stark negativ geladene Heparinmolekül bildet wahrscheinlich mit Komplement- und Enzymeiweißkörpern Komplexverbindungen, wodurch es zu einer Komplementinaktivierung mit Unterbrechung der Antigen-Antikörperreaktionen und zu einer Hemmung proteolytischer Enzymreak-

tionen kommt. Dadurch werden Erythrozyten- und Eiweißzerfall und somit die Entstehung schockauslösender Substanzen sowie hyaliner Thromben verhindert (PERLICK und LUTZ 94).

c. Ekzem

Auch beim chronischen Ekzem wurde versucht, durch Anticoagulantien einen günstigen therapeutischen Effekt zu erzielen. Hierbei ging man von der Vorstellung aus, daß es unter Heparin zu einer örtlichen Entgiftung von Histamin und zu vermehrter Bindegewebszellentätigkeit kommt. So konnten z. B. Patienten mit chronisch nässendem Ohrekzem, welches zuvor auf keinerlei Behandlung ansprach, unter Antibiotika und Heparin geheilt werden (DOLOWITZ 15).

Auf Grund der schon oben (s. Einleitung) erwähnten Versuche von GENTELE und HOLMGREN (33) wird auch ein positiver Einfluß des Heparins auf das Kontaktekzem vermutet. Jedoch ist diese Annahme gerade Fragestellung vorliegender Versuche.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. MATERIAL

1. Versuchstiere

Zu beiden Versuchen wurden ausschließlich männliche Albinomeerschweinchen mit einem durchschnittlichen Gewicht von 350 gr. verwendet. Es ist bekannt, daß Meerschweinchen besonders gut mit den meisten anorganischen und organischen Substanzen, die beim Menschen ein Ekzem erzeugen, zu sensibilisieren sind (STORCK 111). Die weiße Rasse wurde aus Gründen der besseren Ablesbarkeit der Reaktionen verwendet. Für alle Tiere galten dieselben Lebensbedingungen.

2. Dinitrochlorbenzol

Als Sensibilisierungs- und Testsubstanz diente das Benzolderivat 2,4- DNCB mit der Summenformel $C_6H_3Cl(NO_2)_2$. Seine gelblichen, rhombischen Kristalle sind in Wasser unlöslich, jedoch löslich in heißem Alkohol, Äther, Benzol und CS_2 . Schon in früheren Experimenten erwies sich DNCB zu Sensibilisierungszwecken sehr geeignet, da schon kleine Dosen eine hautreizende bzw. allergische Wirkung zeigen (STORCK 111). Verschieden-prozentige und promillige DNCB-Äthanollösungen wurden hergestellt.

3. Heparin

Als Anticoagulans wurde "Heparin" der Firma Hoffmann-La-Roche verwendet. Davon ist 1 mg 120 internationalen Einheiten gleichzusetzen. Ein Gramm dieses Präparates wurde jeweils in 100 ml NaCl gelöst, so daß eine 1 %ige Heparinlösung entstand. Diese wurde von Geraden bakterienfrei filtriert (Membranfilter). Die Injektionen erfolgten mit einer 1 ml-Tuberkulinspritze.

II. METHODIK

1. Allgemeine Versuchsanordnung

Vor Beginn der eigentlichen Versuche wurden 10 Meerschweinchen mit einer Menge von 0,025 ml einer 0,025 %igen und einer 0,05 %igen DNCB-Lösung getestet, um eine eventuelle toxische Wirkung der beiden Konzentrationen zu prüfen. Nach 24 Stunden waren jedoch keinerlei Reaktionen sichtbar.

Die Sensibilisierung erfolgte im Bereich des Nackens, nachdem zuvor die Haut mittels einer elektrischen Schermaschine haarfrei gemacht war. Mit Hilfe einer Mikropipette (0,1 ml) wurde eine Menge von 0,05 ml = 2-3 Tropfen einer bestimmten DNCB-Lösung auf die rasierte Haut appliziert. Die Flüssigkeit trocknete rasch ein. Analog der Sensibilisierung am Nacken wurde an der Flanke mit einer Menge von 0,025 ml = 1-2 Tropfen einer DNCB-Lösung getestet. Sollten verschiedene Testkonzentrationen zugleich verwandt werden, so war zuvor der rasierte Testbezirk mit einem Dermograph in einzelne Felder abgegrenzt. 24 Stunden nach dem vorgenommenen Test wurde jeweils die Reaktion abgelesen. Dabei wurden die Tiere je nach der Stärke der Hautreaktion einem der fünf folgenden Grade zugeordnet:

- o = normale Haut
- + = geringe Rötung
- ++ = mäßige, gut begrenzte Rötung
- +++ = starke Rötung mit geringer Infiltration
- ++++ = intensiv roter, infiltrierter Bezirk.

In beiden Versuchsanordnungen wurde Heparin intraperitoneal injiziert und zwar dreimal täglich 0,1 ml = 120 IE einer 1 %igen Heparinlösung. Auf eine streng intraperitoneale Injektion und Vermeidung von Verletzungen wurde besonders geachtet.

2. Versuch I

Zur Verfügung standen 66 Tiere, welche in eine Gruppe A mit 47 Tieren und eine Gruppe B mit 19 Tieren aufgeteilt wurden.

a. Gruppe A

Dreimal, jeweils im Abstand von 8 Tagen, wurden alle 47 Tiere mit einer 5 %igen DNCB-Lösung sensibilisiert. Acht Tage nach der letzten Sensibilisierung erfolgte der Test. Dazu dienten eine 0,05 %ige und eine 0,025 %ige DNCB-Lösung. Nach 24 Stunden wurden die Reaktionen abgelesen. Während der folgenden 4 Tage erhielten 18 Tiere dieser Gruppe 3 mal täglich 120 IE Heparin, und einen Tag danach wurde wieder getestet.

b. Gruppe B

In Variation des Versuchs mit Gruppe A wurden hier schon am Vortage der ersten Sensibilisierung alle 19 Tiere unter Heparin gesetzt. In der gleichen zeitlichen Reihenfolge und mit derselben Menge und Konzentration der Lösung wurde dreimal sensibilisiert, jedoch mit dem Unterschied, daß nunmehr schon während des Sensibilisierungsvorgangs alle Tiere unter Heparin standen. Nachdem insgesamt 22 Tage Heparin verabfolgt war, erfolgte am 23. Tag der Test. Die Heparininjektionen wurden noch weitere 7 Tage fortgesetzt und anschließend die Tiere nochmals getestet.

3. Versuch II

Zu diesem Versuch wurden 49 Tiere verwendet. Nach dreimaliger Sensibilisierung mit 5 %iger DNCB-Lösung ergab der darauffolgende Test nur eine relativ geringe Anzahl positiver Tiere. Daher wurde im ganzen innerhalb von 6 Wochen 6 mal sensibilisiert. Der daran anschließende Test erfolgte mit DNCB-Lösungen von 0,4 %, 0,8 % und 1,2 %. An den auf den Test folgenden 3 Tagen erhielten 31 Tiere Heparin, während die restlichen 18 Tiere als Kontrolle dienten. Am 4. Tag wurden alle 49 nochmals mit denselben Konzentrationen getestet.

III. ERGEBNISSE

1. Versuch I:

a. Prozentuale Aufteilung

Gruppe A: 47 Tiere wurden innerhalb von 3 Wochen 3 mal mit einer 5 %igen DNCB-Lösung sensibilisiert und anschließend mit einer 0,05 %igen und 0,025 %igen DNCB-Lösung getestet. Daraufhin erhielten davon 18 Tiere 4 Tage lang 3 mal täglich 120 IE Heparin. Am 5. Tag wurden diese 18 Tiere nochmals mit denselben DNCB-Konzentrationen getestet. Folgende Tabelle enthält die Testergebnisse aller 47 sensibilisierten Tiere ohne Heparin und die Testergebnisse der davon entnommenen 18 Tiere, welche 4 Tage unter Heparin standen.

Reaktion		o	+	++	+++	++++
ohne Heparin (47 Tiere) = 100 %	P _{0,05 %}	41,4	/	48,3	6,9	3,4
	P _{0,025 %}	86,2	/	10,4	3,4	/
4 Tage Heparin (18 Tiere) = 100 %	P _{0,05 %}	38,9	44,4	16,7	/	/
	P _{0,025 %}	100	/	/	/	/

P_{0,05 %} = prozentualer Anteil der Tiere bei einer Testkonzentration von 0,05 % DNCB

P_{0,025 %} = prozentualer Anteil der Tiere bei einer Testkonzentration von 0,025 % DNCB

Gruppe B: 19 Tiere wurden unter Heparin (360 IE/die) mit einer 5 %igen DNCB-Lösung sensibilisiert. Nach 22 Tagen erfolgte der 1. Test an allen Tieren mit einer 0,05 %igen und einer 0,025 %igen DNCB-Lösung. Weitere 7 Tage wurde Heparin injiziert und nochmals alle 19 Tiere getestet. Folgende Tabelle enthält die Testergebnisse der 19 Tiere sowohl nach 22 als auch nach 29 Tagen Heparinmedikation.

Reaktion		o	+	++	+++	++++
22 Tage Heparin (19 Tiere) = 100 %	P _{0,05 %}	63,2	10,5	26,3	/	/
	P _{0,025 %}	84,2	10,5	26,3	/	/
29 Tage Heparin (19 Tiere) = 100 %	P _{0,05 %}	73,7	10,5	10,5	5,3	/
	P _{0,025 %}	89,5	10,5	/	/	/

P_{0,05 %} = prozentualer Anteil der Tiere bei einer Testkonzentration von 0,05 % DNCB

P_{0,025 %} = prozentualer Anteil der Tiere bei einer Testkonzentration von 0,025 % DNCB

b. Statistische Auswertung von Versuch I

Nullhypothese: Es besteht nach beiden Behandlungsweisen kein Unterschied im Auftreten des Ekzems.

1. Der statistische Vergleich wird gezogen zwischen 47 Tieren, welche ohne Heparin getestet wurden und 18 Tieren, welche 4 Tage lang unter Heparin standen und anschließend getestet wurden. Testkonzentration war jeweils eine 0,05 %ige DNCB-Lösung.

$$\begin{aligned} X^2 &= 7,5 \\ f &= 4 \quad \frac{X^2}{f} = 1,76 \quad X^2_{99\%} = 3,32 \end{aligned}$$

Die Hypothese ist mit der Beobachtung vereinbar.

2. Der statistische Vergleich wird gezogen zwischen den Testergebnissen von 47 Tieren, welche kein Heparin erhielten, und den Testergebnissen von 19 Tieren, welche im ganzen 22 Tage Heparin erhielten und sowohl unter Heparin sensibilisiert als auch getestet wurden. (Sensibilisierungskonzentration: 5 % DNCB-Lösung; Testkonzentration: 0,05 % DNCB-Lösung; Heparin: 360 IE/die).

$$\begin{aligned} X^2 &= 3,03 \\ f &= 4 \quad \frac{X^2}{f} = 0,76 \quad X^2_{99\%} = 3,32 \end{aligned}$$

Die Hypothese ist mit der Beobachtung vereinbar.

3. Es werden die Ergebnisse zweier Tests verglichen. 19 Tiere wurden schon unter Heparin sensibilisiert. Alle Tiere wurden während dauernder Heparinmedikation sowohl nach 22 Tagen als auch nach 29 Tagen getestet. (Sensibilisierungskonzentration: 5 % DNCB; Testkonzentration 0,05 % DNCB; Heparin: 360 IE/die).

$$\begin{aligned} X^2 &= 1,94 \\ f &= 3 \quad \frac{X^2}{f} = 0,65 \quad X^2_{99\%} = 2,60 \end{aligned}$$

Die Hypothese ist mit der Beobachtung vereinbar.

2. Versuch II:

a. Prozentuale Aufteilung

49 Tiere wurden 6 mal sensibilisiert (5 %ige DNCB-Lösung) und anschließend getestet (0,4 %-, 0,8 %- und 1,2 %-ige DNCB-Lösungen). Danach erhielten 31 Tiere 3 Tage lang Heparin (360 IE/die). Am 4. Tag erfolgte ein zweiter Test an allen 49 Tieren mit den angeführten Konzentrationen, wobei die 18 Tiere, welche kein Heparin erhielten, als Kontrolle dienten. Folgende Tabelle enthält die gewonnenen Testergebnisse.

Reaktion		o	+	++	+++	++++
ohne Heparin (Kontrolle) (18 Tiere) = 100 %	P _{1,2‰}	38,9	27,8	27,8	5,5	/
	P _{0,8‰}	77,8	16,7	5,5	/	/
	P _{0,4‰}	94,4	5,6	/	/	/
3 Tage Heparin (31 Tiere) = 100 %	P _{1,2‰}	67,7	22,6	9,7	/	/
	P _{0,8‰}	90,3	6,5	3,2	/	/
	P _{0,4‰}	96,8	/	3,2	/	/

P_{1,2‰} = prozentualer Anteil der Tiere bei einer Testkonzentration von 1,2 %o DNCB

P_{0,8‰} = prozentualer Anteil der Tiere bei einer Testkonzentration von 0,8 %o DNCB

P_{0,4‰} = prozentualer Anteil der Tiere bei einer Testkonzentration von 0,4 %o DNCB

b. Statistische Auswertung von Versuch II

Nullhypothese: Es besteht nach beiden Behandlungsweisen kein Unterschied im Auftreten des Ekzems.

1. Der statistische Vergleich wird gezogen zwischen den Testergebnissen von 18 Tieren, welche kein Heparin erhielten, und den Testergebnissen von 31 Tieren, welche 3 Tage lang 360 IE Heparin bekamen. Die Testkonzentration betrug 1,2‰ DNCB.

$$X^2 = 5,08$$

$$f = 3 \quad \frac{X^2}{f} = 1,69 \quad X^2_{99\%} = 3,78$$

Die Hypothese ist mit der Beobachtung vereinbar.

2. Der statistische Vergleich wird gezogen zwischen den Testergebnissen von 18 Tieren, welche kein Heparin erhielten, und den Testergebnissen von 31 Tieren, welche 3 Tage lang 360 IE Heparin bekamen. Die Testkonzentration betrug 0,8‰ DNCB.

$$X^2 = 1,65$$

$$f = 2 \quad \frac{X^2}{f} = 0,83 \quad X^2_{99\%} = 4,60$$

Die Hypothese ist mit der Beobachtung vereinbar.

3. Der statistische Vergleich wird gezogen zwischen den Testergebnissen von 18 Tieren, welche kein Heparin erhielten, und den Testergebnissen von 31 Tieren, welche 3 Tage lang 360 IE Heparin bekamen. Die Testkonzentration betrug 0,4‰ DNCB.

$$X^2 = 1,16$$

$$f = 2 \quad \frac{X^2}{f} = 0,58 \quad X^2_{99\%} = 4,60$$

Die Hypothese ist mit der Beobachtung vereinbar.

D. DISKUSSION

Ausgangspunkt vorliegender Arbeit war die Frage einer eventuellen antiallergischen Wirksamkeit des Heparins. Hierbei sollte vor allem das Ergebnis tierexperimenteller Versuche von GENTELE und HOLMGREN (33) überprüft werden. Diese Autoren sensibilisierten männliche Albinomeerschweinchen (300 gr) mit einer 3 %igen DNCB-Lösung in Azeton. Nach 2-3 Wochen antworteten die Tiere auf eine 1 %ige DNCB-Lösung in 100 % der Fälle. Die sensibilisierten Tiere wurden in eine Kontrollgruppe und eine unter Heparin stehende Gruppe aufgeteilt. Heparin wurde in Form einer 1 %igen Lösung intraperitoneal injiziert. Die Bewertung der Testreaktionen erfolgte nach dem jeweiligen Grad der Hautschädigung (Erythem, Papelbildung, Infiltration, Nekrose).

Im ersten Versuch wurden 36 Tiere 18 Tage nach der letzten Sensibilisierung 4 mal täglich mit je 0,5; 0,25; 0,25; 0,5 ml Heparin für die Dauer von 5 Tagen behandelt. Schon nach 2 Tagen zeigten 17 Tiere auf eine 1/2 und eine 1 %ige alkoholische DNCB-Lösung als Testsubstanz eine negative Reaktion, während sich bei der Kontrollgruppe nur 2 negative Tiere fanden.

Im zweiten Versuch wurde 0,1 ml einer 0,1 %igen DNCB-Lösung als Testsubstanz verwandt und intradermal appliziert. 20 Tiere dienten als Kontrolle, weitere 20 wurden mit Heparin behandelt. Im übrigen blieb die Versuchsanordnung dieselbe. Das Ergebnis dieses Versuches stimmte mit dem des ersten Versuches überein, jedoch konnte gegenüber drei weiteren Versuchsreihen keine Übereinstimmung mehr erzielt werden. Dennoch glaubten die Autoren, eine antiallergische Wirksamkeit des Heparins annehmen zu können und schlossen sich damit der Meinung von SILFVERSKJÖLD (106), WILLIAMS und CARR (123), DOLOWITZ (15), PERLICK und LUTZ (94) und anderen an. Gestützt wird diese Auffassung durch die Beobachtung, daß bei allergischen Prozessen Heparin freige-

setzt wird (KELLER 64, STÜTTGEN 113). Die Verwendung obligat-toxischer Testkonzentrationen (1 % DNCB) schränkt die Verwertbarkeit der Ergebnisse von GENTELE und HOLMGREN (33) stark ein. Ähnlich den Versuchen von GENTELE und HOLMGREN (33) wurden auch die hier vorliegenden Experimente an Meerschweinchen ausgeführt. Die Testergebnisse wurden in Tabellen prozentual dargestellt. Beim Vergleich der Testreaktionen mit und ohne zuvorige Heparinbehandlung fiel zunächst bei beiden Versuchen ein gewisser zahlenmäßiger Unterschied auf im Sinne einer positiven antiallergischen Wirksamkeit des Heparins. Eine signifikante Differenz war jedoch bei keinem der statistischen Vergleiche zu verzeichnen.

Wenn auch eine Mastzellendegranulation und damit eine Heparinfreisetzung bei allergischen Reaktionsmechanismen als sicher angenommen werden darf (WIEDMANN und NIEBAUER 122, MOTA und VUGMAN 86), und verschiedene Autoren auch schon die Verhinderung einer Antigen-Antikörper Reaktion durch Heparin bzw. heparinähnliche Substanzen erörtern, so muß dennoch auf Grund der Ergebnisse oben beschriebener Experimente eine antiallergische Wirksamkeit des Heparins, jedenfalls in der angewandten Konzentration und bei der speziellen Sensibilisierung mit DNCB abgelehnt, zumindest weiter in Frage gestellt werden. Damit kann aber auch der Interpretation der Ergebnisse von GENTELE und HOLMGREN (33) nicht ohne weiteres Folge geleistet werden, zumal auch die histologischen Untersuchungen dieser Autoren für die Verwendung primär toxischer DNCB-Konzentrationen sprechen, so daß ihre Ergebnisse von vornherein als nicht sicher verwertbar erscheinen.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Die Frage einer eventuellen antiallergischen Wirksamkeit des Heparins am Beispiel eines durch DNCB erzeugten Ekzems wird erörtert. Versuchsobjekt waren 115 Albinomeerschweinchen, welche mit 5 %iger DNCB-Lösung sensibilisiert und mit nicht toxischen DNCB-Konzentrationen getestet wurden. Der Test erfolgte bei einem Teil der Tiere nach zeitlich verschieden langer Heparinmedikation, wobei täglich 360 IE einer 1 %igen Heparinlösung intraperitoneal injiziert wurden. Andere Tiere, welche nicht unter Heparin standen, dienten dabei als Kontrolle. Bei einem Teil der Tiere erfolgte die Sensibilisierung unter Heparin.

Wenn auch teilweise eine geringe Abschwächung der Testreaktionen unter Heparin zu beobachten war, so muß doch gesagt werden, daß auf Grund der geschilderten Versuche eine signifikante Hemmung des mit DNCB erzeugten Ekzems bei Meerschweinchen durch Heparin weder bezüglich der Sensibilisierung noch der auslösenden Testreaktion festzustellen war.

An dieser Stelle möchte ich nicht versäumen, Herrn Privatdozent Dr. med. F. Schröpl für die Überlassung des Themas und die mir bei der Abfassung meiner Arbeit gewährte Unterstützung meinen ergebenen Dank auszusprechen.

Herrn Professor Dr. med. H. Röckl danke ich für die Übernahme des Korreferates.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. AHUYA, M.L.,
A.G. BROOKS,
N. VEERARAGHAUAN,
J.G.K. MENON: Ind. J. med. Res. 34, 317 (1946)
Zit. n. Gastpar 1965
2. ALEXANDER, J. O'D: The treatment of dermatitis herpeti-
formis with heparin,
Brit. J. Derm. 75, 289-293 (1963)
3. AMANN, R. und
H.P. WOLFF: Schwermetalle in Leukozyten
Z. ges. exp. Med. 127, 281 (1956)
4. ASBOE-HANSEN, G.: Structure and function of the mastcells.
12-23, In:
Connective Tissue; Blackwell, Oxford 1957
5. BIDL, A.,
R. KRAUS: Experimentelle Studien über Anaphylaxie.
Wien. klin. Wschr. 22, 363-370 (1909)
6. BLASIUS, R.,
W. SEITZ: Die Beeinflussung der elektrophoreti-
schen Wanderungsgeschwindigkeit von
Serumglobulinen durch Zusatz von Heparin.
Klin. Wschr. 905 (1952)
Zit. nach Gastpar 1965
7. BLOCH, B.: Über das Wesen der Jodoformidiosyn-
krasie.
Korresp.-Bl. Schweiz. Aerz. 1911 a, Nr. 5
Experimentelle Studien über das Wesen
der Jodoformidiosynkrasie,
Z. ges. exp. Path. Ther. 9, 1 (1911 b).
8. BRAUNSTEINER, H.,
O. POUTUZHEK,
N. THUMB: Variations observed in the number of
basophilic leukocytes in man. Their
functional significance.
Rev. Hémat. 15, 241 (1960)
9. CASH, J. T.: The dermatitis produced by East Indian
Sabinwood.
Brit. med. J. II, 789 (1911)
10. CHO, M. H.,
L. B. JAKES: Canad. J. Biochem. 34, 799 (1956)
Zit. n. Gaspar 1965

11. CLARKE, D. W.,
F. C. MONKHOUSE: The combination of heparin and bovine serum albumin.
Canad. J. Med. Sci. 31, 394 (1953)
12. CRASS, R.,
P. B. MARSHALL,
J. F. RILEY: 5-Hydroxytryptamine and Histamine in Mast Cells of the mouse and rat.
J. Physiol. (London) 141, 510 (1958)
13. DAHL, Sv.: Heparin und Asthma.
Z. Tuberk. 118, 255-262 (1962)
14. DAVIDSON, E. A.,
K. MEYER: Chondroitin, a new Mucopolysaccharide.
J. biol. Chem. 211, 605 (1954)
15. DOLOWITZ, D. A.: Behandlung des chronisch nässenden Ekzems mit einem antibiotischen Heparin-komplex.
Thr. Monthly 37, 594-596 (1958)
16. DYCKERHOFF, H.,
O. GRÜNEWALD: Über den Reaktionsmechanismus der Hemmung der Blutgerinnung durch einige seltene Erden und durch Heparin.
Biochem. Z. 315, 124 (1943)
17. EDER, M.,
A. SCHAUER: Fermenthistochemische und experimentelle Untersuchungen an Gewebsmastzellen.
Beitr. pathol. Anat. 124, 251 (1961)
18. EHRLICH, W. E.: Handbuch der allgemeinen Pathologie-Reaktionen, 1959
19. EHRLICH, W. E.,
J. SEIFTER,
H. E. ALBURN,
A. J. BEGANY: Heparin und Heparinocytes in Elephantiasis Scroti.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 70, 183 (1949)
20. EICHBAUM, F. W.: The role of anticoagulant substances (Dicumarol and Heparin) in the prevention of the local Schwartzman reaction.
J. Allergy 28, 429 (1957).
21. FELDBERG, W.: Allergische Reaktionsmechanismen.
Arch. Klin. u. exp. Derm. 213, 343-381 (1961)

22. FERRANTE, N.D.: Turbidimetric measurement of acid mucopolysaccharides and hyaluronidase activity.
J. biol. Chem. 220, 303 (1956)
23. FISCHER, A.: Biochem. Z. 259; 53 (1933)
Zit. nach Gastpar 1965
24. FISCHER, H.,
L. KREUZER,
A. ARGENTON: Thrombose und Embolie.
136 Schwabe, Basel, 1955
25. FONIO, A.: Über den Aufbau und die Reaktion des
Fibringerinnsels in physiologischer und
pathologischer Beziehung.
Schweiz. med. Wschr. 84, 785 (1954)
26. FOSTER, A.B.,
A. J. HUGGARD: The Chemistry of Heparin.
Advanc. Carbohyd. Chem. 10, 335 (1955)
27. FOSTER, A.B.,
E. F. MARTLEW,
M. STACY: Presence of the sulfamic acid group in
heparin.
Amer. chem. Soc. Abstracts papers.
126, 6 D (1954)
28. FRICK, R.: Zur Physiopathologie der Mastzellen.
Acta haemat. (Basel) 4, 97 (1950)
29. FROMMEYER, W.B.: Hemorrhagic diseases.
N. engl. J. med. 241, 700 (1949)
30. GASTPAR, H.: Physiologische Bedeutung und pharmako-
logische Wirkungen des Heparins.
Schattauer-Verlag, Stuttgart, 1965
31. GASTPAR, H.: Die Nebenwirkungen der Heparinoide.
Chemother. Stuttg. II, 1798 (1963),
Thieme.
32. GASTPAR, H.,
N. GOOSSENS: Untersuchungen über die Dosisabhängig-
keit der ausgeschiedenen Heparinmengen
im Urin des Menschen.
Proc. 8th Congr. Europ. Soc. Haematol.
Vienna 1961. II, 437. Karger, Basel 1962
33. GENTILE, H.,
H. J. HOLMGREN: Investigation of a possible inhibitor action
of heparin upon certain experimental
allergic dermatosis.
Acta dermatologica, 31, 322 (1951)

34. GERSH, J.:
Some functional considerations of ground substance of connective tissues.
2. Conf. Connective Tissue. Macy Foundation New York, 1952
35. GIBIAN, H.:
Mucopolysaccharide und Mucopolysaccharidasen.
Deuticke, Wien. 1959
36. GODAL, H. C.:
Binding of heparin to fibrin(ogen).
J. clin. Lab. Invest. 13, 550 (1961)
37. GOOD, R. A.,
L. THOMAS:
Inhibition by Heparin of the local and generalized Shwartzman reactions.
J. Lab. clin. Med. 40, 804 (1952)
38. GOOSSENS, N.,
H. GASTPAR;
W. SEITZ:
Über die Beziehungen zwischen Wirksamkeit und Toxizität bei Nativheparinen und Heparinoiden.
Klin. Wschr. 1958, 524
39. GORTER, E.:
Heparin und Eiweiß.
Angew. Chemie 66; 83 (1954)
40. HALSE, Th.:
Heparin und Heparinoide, Dicumarol
Hirzel-Verlag, Stuttgart, 1950
41. HALSE, Th.:
Die Fibrinolyse.
Cantor, Aulendorf, 1948
42. HANZLIK, P. J.,
E. M. BUTT and
A. B. STOCKTON:
Reciprocal action of the crop muscles in anaphylactic shock, with a note on the effects of heparin.
J. Immunol. 13, 409 (1927)
43. HARDEGG, W.,
H. HARTERT,
G. HIERONYMI:
Gerinnungsaktivität und Toxizität bei Heparinen und Heparinoiden.
Klin. Wschr. II, 778 (1957)
44. HARDEGG, W.,
K. HÜHNSTOCK,
W. MAASS und
H. ABEL:
Zum Mechanismus der blutdrucksenkenden Wirkung von Heparin.
Klin. Wschr. II, 763 (1956)
45. HILL, M.:
Zit. nach Gastpar 1965
Nature 180, 654 (1957)

46. HOWELL, W.H.,
E.HOLT: Two new factors in blood coagulation:
Heparin and Pro-Antithrombin.
Amer.J.Physiol. 47, 328 (1918)
47. INDERBITZIN, Th.: Das Problem der allergischen Reaktions-
mechanismen,
Basel 1957 (Karger, New York) S. 147 -
188
48. JAKES, L.B.: A study of the toxicity of the protamine,
salmine.
Brit.J.Pharmakol. Chemother. 4, 135
(1949)
49. JAKES, L.B.: The reaction of Heparin with proteins
and complex bases.
Biochem. J. 37, 189 (1943)
50. JAKES, L.B.,
C.M.JAKES: The disappearance of heparin activity
with liver globulins and determinations
of heparinase.
Thrombos.Diathes.hämorrh. (Stuttgart)
10, 71 (1963)
51. JAKES, L.B.,
M.B.MITFORD,
A.G.RICKER: The metachromatic activity of heparin.
Rev. Canad. Biol. 6, 740 (1947)
52. JAKES, L.B. and
E.T.WATERS: The identity and origin of the anticoagu-
lant of anaphylactic shock in the dog.
J. Physiol.. (London) 99, 454 (1941)
53. JENSEN, R.,
O.SNELLMAN,
B.SYLÉN: On the inhomogeneity of commercial
heparin preparations from the physico-
chemical point of view.
J. biol. Chem. 174, 265 (1948)
54. JOHANSSON, S.A.,
A.LUNDBERG,
H.E.SJÖBERG: Influence of heparin on thrombocytopenia
in allergic reactions.
Acta med. scand. 168, 165 (1960)
55. JORES, A.,
A.DETZEL: Heparin und seine praktische Anwendung.
Klin. Wschr. 19, 641 (1940)
56. JORPES, J.E.: Heparin in the treatment of thrombosis.
2.Aufl. Oxford Univ.Press, London 1946

57. JORPES, J. E.,
S. BERSTRÖM: A Mucoitin Polysulfuric Acid.
J. biol. Chem. 118, 447 (1937)
58. JORPES, J. E.,
H. BOSTRÖM,
B. MANSSON: On the Linkage of the Amino Group
in Heparin.
Acta. chem. scand. 6, 797 (1952)
59. JORPES, J. E.,
H. HOLMGREN,
O. WILANDER: Über das Vorkommen von Heparin in den
Gefäßwänden und in den Augen.
Z. mikr.-anat. Forsch. 42, 279 (1937)
60. JÜRGENS, E. G.: Der Effekt von Polysacchariden und
NNR-Hormonen beim anaphylaktischen
Schock der Ratten, ausgelöst durch Anti-
rattenbindegewebsserum.
Arzneimittelforschung 6, 369 (1956)
61. JÜRGENS, R.: Arch. exp. Pathol. Pharmakol. 222,
158 (1954)
Zit. nach Gastpar 1965
62. KAISER, W.,
N. ZÖLLNER: Über die Geschwindigkeit der Elimination
von Heparin aus dem Blut.
Verhandlg. dtsch. Ges. inn. Med. 69, 916
(1963)
63. KAUFMANN, H.: Thrombose und Embolie. 1062.
Schwabe, Basel, 1955
64. KELLER, R.: Zur funktionellen Bedeutung der Gewebs-
mastzellen.
Schweiz. med. Wschr. 92, 1638-1641 (1962)
65. KELLER, R.: Antagonismus zwischen Heparin und
5-Hydroxytryptamin (Serotonin) in vitro.
Experientia (Basel) 13, 112 (1957)
66. KERP, L. und
G. STEINHAEUSER: Über einen ternären Heparin-Metall-
Histamin-Komplex.
Klin. Wschr. 39, 762 (1961)
67. KLEIN, P. D.,
W. H. SEEGER: The Nature of Plasma Antithrombin
Activity.
Blood 5, 742 (1950)
68. KLOBUSITZKY, D. V.: Zit. nach Gastpar 1965
Arch. exp. Path. Pharmak. 227, 196 (1955)

69. KÖKSAL, M.:
Extraction of a Heparin like Substance
from Mast Cell Granules in Mouse
Connective Tissue.
Nature (London), 172, 733 (1953)
70. KOZLOWSKI, J.,
E. MALASZYNSKA-
OLKIEWICZ,
R. WANKIEWICZ und
L. LIPSKI:
Heparin als Stimulans des kapillartoxisch-
nekrotisierenden Faktors bei hyperergi-
scher Purpura.
Dermatol. Wschr. 151 (1965), Heft 19
71. KYES, P.A. and
E.R. STRAUSSER:
Heparin inhibition of anaphylactic shock.
J. Immunol. 12, 419 (1926)
72. LANDSTEINER, K. and
J. JAKOBS:
Studies on the sensitization of animals
with simplex chemical compounds.
J. exp. Med. 61, 643 (1935)
73. LENNERT, K.,
J. C. F. SCHUBERT:
Zur Cytochemie der Blut- und Gewebs-
mastzellen.
Verhandlg. dtsch. Ges. inn. Med. 66,
1061 (1960)
74. LOGAN, G.:
Chemical mediators of acute allergic
reactions.
Journ. of diseases of children 104, 185
(1962)
75. MACHER, E.:
Das entzündliche Hautinfiltrat.
Handb. d. Haut- und Geschlechtskrankht.
I, 2 Freiburg, Brsg., 473 (1964)
76. MACHT, D.J.:
Experimental studies on heparin and its
influence on toxicity of digitaloids, congo-
red, cobra venom and other drugs.
Ann. Int. Med. 18, 772 (1943)
77. MACKOWIAK, E.J. and
R.D. BARNARD:
Comparative in vitro neutralization of
Heparin.
J. Amer. pharm. Ass. 36, 383 (1947)
78. MAFFEL, R.,
E. ERRIGO,
A. PARRINELLO,
G. CLAUSISCHETTINI:
Clinical and experimental research on the
presumed antiallergic action of heparin.
Policlinico (Prat.) 66, 976 (1959)

79. MARX, R.,
A. VATH:
Über experimentelle Untersuchungen mit einer synthetischen heparinartigen Substanz. (Polysaccharid-schwefelsäure-ester Thrombocid) in Hinsicht auf deren Verwendbarkeit als Anticoagulans und Antithrombotikum.
Ärztl. Forsch. 3, 131 (1949)
80. MATHIEU, W.,
M. RÉMY,
C. H. PERNOT,
J. METZ,
R. LAGARDE:
Les accidents et incidents non hémorrhagiques de l' Héparinothérapie.
Presse méd. 49, 1023 (1955)
81. MATIS, P.:
Thrombose und Embolie.
853 Schwabe, Basel 1955
82. Mc. DONAGH:
Zit. nach Gastpar, 1965
Brit. med. J. 1953, 772, 1128
83. MEYER, K. H. et
D. E. SCHWARTZ:
Les substituants des groupes amino de l' héparine. Sur les polysaccharides aminés II.
Helv. chim. Acta 33, 1651 (1950)
84. MØLLER, K. O.:
Pharmakologie, 1961
85. MONKHOUSE, F. C.,
E. FIDLAR,
J. C. D. BARLOW:
Release of heparin in anaphylactic shock in inactivated and non-inactivated animals.
Amer. J. Physiol. 169, 712-720 (1952)
86. MOTA, J.,
J. VUGMAN:
Action of compound 48/80 on the mast cells and histamine contents of guinea-pig tissues.
British. J. Pharm. 11, 304 (1956)
87. NAEGELI, Th.,
P. MATIS:
Die thromboembolische Krankheit.
Ergeb. Chir. Orthop. 38, 1 (1953)
88. NEJEDLY, O.,
H. G. PIPER:
Die Ausscheidung metachromasiegebender, gerinnungsaktiver Substanzen im Urin nach Verabreichung von Heparin und Heparinoiden.
Hautarzt, 12, 77-79 (1961)
89. NIEBAUER, G.:
Nervensystem und allergisches Ekzem
1962

90. NIEBAUER, G.: Morphologie und Funktion der Mastzellen bei allergischen Reaktionen.
Wien.klin. Wschr. 75 (174-176), 1963
91. PARRAT, J.R., Zit. nach Gastpar 1965
G.B. WEST: J. Physiol. (London) 133, 71 (1957)
92. PERLICK, E.: Antikoagulantien
Thieme, Leipzig, 1957
93. PERLICK, E.: Antikoagulantien
2. Aufl. Thieme, Leipzig, 1959
94. PERLICK, E., Erythrocytenfragilität und Gefäßkrank-
heiten.
H. LUTZ: Z. klin. Med. 150, 421 (1953)
95. PIPER, J.: Zit. nach Gastpar 1965
Acta pharmacol. (Kbh.) 3, 373 (1947)
96. PIPER, H.G.: Heparinbilanz in der Dermatologie.
Arch. Klin. u. exp. Dermatol. 206,
574-579 (1957)
97. PIPER, H.G. und Zur Frage der Penetration des Heparins
G. WIEDEMANN: durch die gesunde Haut.
Arch. klin. -exp. Derm. 211, 393-395
(1960)
98. PLAGET, C.: Zit. nach Gastpar 1965
J. franc. oto-rhino-laryng. 3, 915 (1954)
99. REED, C.J.: Zit. nach Gentele, Holmgren 1951
J. Immunol. 18, 181, 1930-
100. REED, C.J., The influence of heparin on the course of
R. W. LAMSON: anaphylaxis in the guinea pig.
Zit. nach Gentele, Holmgren 1951
101. RUPP, E., Die Beeinflussung der allergischen Reak-
F. STRECKERT, tion durch Dauermedikation eines Anti-
G. STÜTTGEN: koagulans vom Heparin-Typ.
Arzneimittelforschung 9, 146-149 (1959)
102. SCHAUER, A. Development of mucopolysaccharides and
M. EDER: formation of histochemical demonstrable
enzyme during mast cell maturation.
Virchows Arch. path. Anat. 335, 72 (1962)

103. SCHÜRER, W.: Speicherung von Heparin in den Zellen des Reticuloendothels.
Helv. med. Acta 13, 328, 1946
104. SCHMITZ, A. und A. FISCHER: Über die Wirkung von Heparin auf Serumalbumin.
Biochem. Z. 259, 53 (1933)
105. SEITZ, W.: Eine einfache Bestimmung des Gesamteiweißgehaltes von Seren durch Titration mit Heparin.
Z. ges. inn. Med. 3, 391 (1948)
Zit. nach Gastpar, 1965
106. SILFVERSKJÖLD, B. P.: Heparin und experimentelle Glomerulonephritis.
Skand. Arch. f. Physiol. 83, 175 (1940)
107. SOULIER, J. P.: Action of heparin in the blood coagulation system. In:
J. S. Wright, J. Koller, E. Beck: Heparin und Thromboplastin, with a survey on Willibrand's Disease.
37. Schattauer, Stuttgart, 1963
108. SPIER, H. W.: Zur Pathogenese des allergischen Kontaktekzems.
Berliner Medizin 10, 121-124 (1959)
109. SPIER, H. W.: Allergie der Haut.
Dermatol. und Venerologie, I₁, 613 (1961)
110. STAMM, H.: Nebenwirkungen und Blutungen bei Antikoagulantien und Fibrinolytica.
VII Hamburg, Symp. Blutgerinnung, 1964
Schattauer, Stuttgart
111. STORCK, H.: Das experimentelle Ekzem.
Handbuch d. Haut- und Geschlechtskrankheiten.
Band II, 1, 1962
112. STÜTTGEN, G.: Physiologie der Haut.
Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart, 1965

Lebenslauf

Am 8.5.1941 wurde ich als Tochter des Landgerichtspräsidenten Johannes Eckert und seiner Ehefrau Maria, geborene Brugier, in Neustadt/Schw. geboren. Nach 5-jährigem Volksschulbesuch kam ich auf die Oberschule. Im März 1961 legte ich am humanistischen Gymnasium Heidelberg die Reifeprüfung ab. Im Sommersemester 1961 begann ich das Medizinstudium an der Universität Heidelberg. Dort bestand ich nach dem 5. Semester das Physikum und nach 6 klinischen Semestern, vorwiegend an der Universität Würzburg, im Sommer 1967 das Staatsexamen.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Seite ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

Christa Eckert

Offset-Druck Gugel, Würzburg
Burkarderstraße 9